

# 从我国肝炎患者中检出 GBV-C 型肝炎病毒 RNA

王海林 夏宁邵\* 谭文杰 詹美云 苏文金\* 侯云德

(中国预防医学科学院病毒研究所, 北京 100052)

**关键词** GB-C型肝炎病毒, 逆转录多聚酶链式反应

在我国病毒性肝炎病人中, 约有 10% 的病人为非甲-戊型肝炎, 这些病人可能是其他未知的肝炎病毒感染所致。Simons 等人<sup>(1)</sup> 最近报道, 从一用急性感染的未知肝炎病毒的外科医生血清接种并传代的长尾猴 (*Tamarin*) 血清中, 分离并克隆到了两种新型肝炎病原因子: A型GB 型肝炎病毒 (GBV-A) 和 B 型 GB 型肝炎病毒 (GBV-B)。接着采用 GBV-A、GBV-B 及 HCV-1 螺旋酶区基因的保守区序列合成简并引物, 又从西非等地区的非甲-戊型肝炎病人和丙型肝炎病人血清中分离到了另一种肝炎病原因子: C 型 GB 型肝炎病毒 (GBV-C)<sup>(2)</sup>。序列分析和发育树排列显示, 这三种新型肝炎病毒均为单股正链 RNA 病毒, 属黄病毒科。采用特异性引物, 在非甲-戊型肝炎病人中迄今未检测到 GBV-A 和 GBV-B RNA, 相反 GBV-A RNA 在正常的长尾猴中有很高的检出率。推测 GBV-A 可能是长尾猴本身的一种潜伏性病毒, 而 GBV-B 可能在血清中病毒血症期很短难以检测到<sup>(3)</sup>。GBV-C RNA 从西部非洲等地区的非甲-戊型肝炎病人和丙型肝炎病人血清中获得并测序后, 又在日本、新西兰、欧洲和非洲等地区不同来源的肝炎病人中检测到了 GBV-C RNA。在美国 1.5% 的献血员为 GBV-C RNA 阳性, 在静脉药瘾者、多次输血史病人、非甲-戊型肝炎病人和慢性丙肝病人中亦有较高的 GBV-C RNA 阳性检出率, 说明 GBV-C 是一种世界性传播的与人类肝炎相关的重要病原<sup>(4)</sup>。为探索 GBV-C 在我国不同临床型肝炎病人中的分布, 我们采用已发表的 GBV-C 螺旋酶区基因 (在 NS3 区) 序列设计 2 对引物, 使用逆转录 Nested-PCR 方法, 对从湖南、厦门和北京收集的 118 份肝炎病人及血液病人的血清进行了 GBV-C RNA 检测。

118 份血清标本分别从湖南、厦门和北京等地收集 (临床资料见表 1)。引物设计参照已发表的 GBV-C 序列 (Genbank U25538-25545), 在 GBV-C 的螺旋酶基因区设计了 2 对引物, 外侧引物对 CF3 5'-GACGTTGGTGAGATCCCCTT-3' (nt4238-4257), CR4 5'-CGAAGTTTCCTGTGTACCC-3' (nt4457-4475)。扩增 cDNA 片段长度为 236bp。内侧引物 CF1 5'-GGATCCCCCTTTTATGGGCATGGC-3' (nt4248-4270), CR2 5'-ATGGATCCCGGTAGATAGCGC-3' (nt4444-4465)。扩增 cDNA 片段长度为 217bp。

用异硫氰酸胍一步法从 200 $\mu$ l 血清中提取 RNA 模板<sup>(5)</sup>, 采用随机引物在 42 $^{\circ}$ C 进行逆转录合成 cDNA, 加入外侧引物对 CF3-CR4, 在 50 $\mu$ l 体积中进行第一次 PCR。反应参数为变性 94 $^{\circ}$ C 45 秒, 退火 52 $^{\circ}$ C 45 秒钟, 延伸 72 $^{\circ}$ C 45 秒, 35 个循环。取 1 $\mu$ l 第一次 PCR 产

\*厦门大学, 厦门市 361005

1996年2月12日收稿, 2月22日修回。



式引物进行 HGV RNA 检测时, 从 3 份 GBV-C 阳性的血清标本中获得了阳性结果, 因此我们认为 GBV-C 和 HGV 可能是同一种病毒。

### 参 考 文 献

- 1 Simons J N, et al. Identification of two flavivirus-like genomes in GB hepatitis agent. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995, 92:3401-3405
- 2 Simons J N, et al. Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. *Nature Medicine*, 1995, 6: 564-569
- 3 Decker R, et al. GBV-C: a new human hepatitis-related virus. *Today's Life Science*, 1995, 11:20-22
- 4 Moaven L, et al. Hep G virus and the Hep GB viruses. *Today's Life Science*, 1995, 11:24-28
- 5 Linnen J, et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: A transfusion-transmissible agent. *Science*, 1996, 271:505-508
- 6 Chomezynski P, et al. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*, 1987, 162:156-160
- 7 谭文杰, 等. 我国庚型肝炎病毒 NS3 区部分基因的 cDNA 克隆与序列分析. 高技术通讯, 待发表

## DETECTION OF HEPATITIS GB VIRUS C(GBV-C) RNA IN CHINESE HEPATITIS PATIENTS

Wang Hailin   Xia Ningshao\*   Tan Wenjie   Zhan Meiyun  
Su Wenjin\*   Hou Yunde

(*Institute of Virology, CAPM, Beijing, 100052*)

One hundred and eighteen serum samples, which were collected from various clinical hepatitis patients were detected by RT-PCR with a set of special primers derived from helicase region of GBV-C genome. Five samples were GBV-C RNA positive, including two non A-E hepatitis patients and three patients with chronic hepatitis C virus. The results show that GBV-C exists in Chinese hepatitis patients and the RT-PCR we set up is a sensitive and specific method in detecting GBV-C RNA. The result also suggests that GBV-C may be the same virus as HGV

**Key words :** Hepatitis GB virus C, Reverse transcription-polymerase chain reaction

\* *Xiamen University, Xiamen 361005*